簡易取扱説明書

novex®
by life technologies™

iBind™ Western System

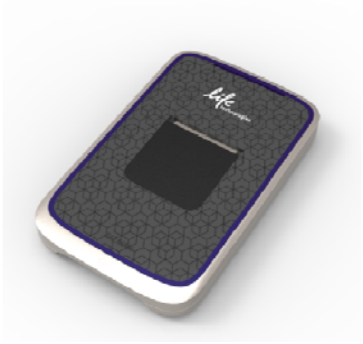
簡易取扱説明書 ver.2

life technologies™

iBind™ Western System 日本語簡易取扱説明書 ver.2

サンプル

ブロッティング済みメンブレン



iBind™ Device

試薬

iBind™ Solution kit 抗体反応用試薬

iBind™ Detection Kits 検出試薬（AP用の二次抗体も含む）

一次抗体

脱イオン水

装置と器具

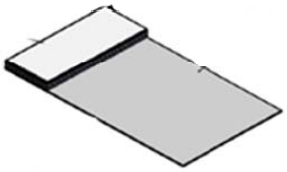
iBind™ Device

iBind™ Cards

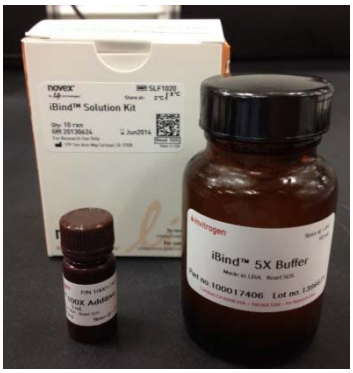
メスシリンダー （50mL または 100 mL）

ピペットマン（p20, p200, p1000）

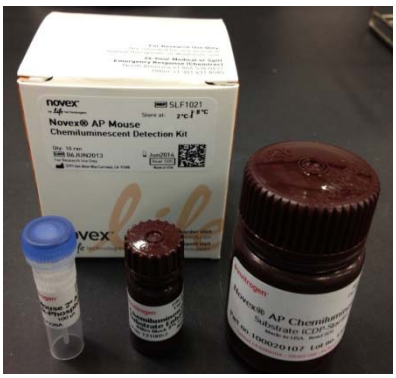
チップ （20 μL, 200 μL, 1500 μL）



iBind™ Cards(室温保存)

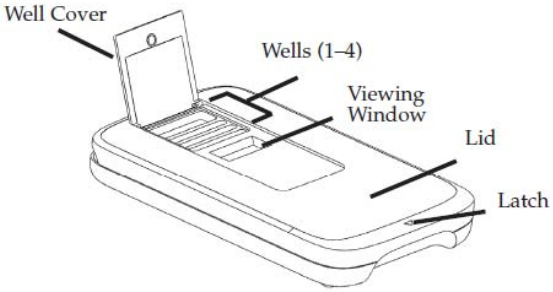


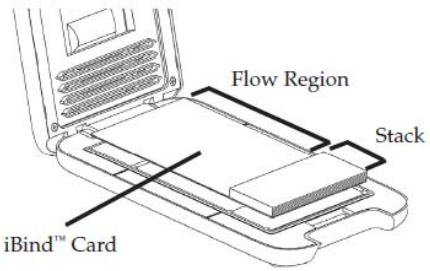
iBind™ Solution kit(4℃保存)



iBind™ Detection Kits(4℃保存)

装置の名称





実験方法

メンブレンへのコンタミネーションを防ぐため、この操作中は手袋を着用して下さい。

はじめに各種試薬を調整します。

iBind™ Solution (iBind™ Solution kit の試薬を使用)

試薬類	ボリューム
iBind™ 5X Buffer	6 mL
iBind™ 100X Additive	0.3 mL
蒸留水	23.7 mL
計	30 mL

※LiCOR Odyssey を検出に使用する場合: 0.3 ml Additive, 0.6 ml Buffer, 29.1 ml Water

一次抗体希釈液 (希釈倍率は AP の場合は推奨濃度、HRP の場合は推奨濃度より 5 倍濃く)

例:HRP での検出の際、マニュアルの推奨濃度が 1:5000 の場合、1:1000 にて使用

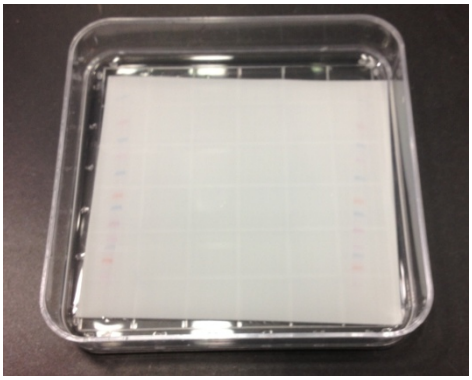
試薬類	AP の場合(通常使用量 X μL)	HRP の場合
一次抗体	X μL	Y μL (=5x X)
iBind™ Solution	2 mL	2 mL
計	2+X mL	2+Y mL

二次抗体希釈液(希釈倍率は AP の場合は下記濃度、HRP の場合は推奨濃度より 5 倍濃く)

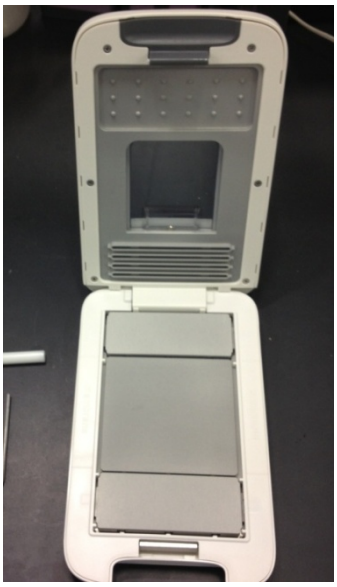
試薬類	AP の場合(キットの試薬を使用)		HRP の場合
	Mouse	Rabbit	(通常使用量 Z μL)
二次抗体	2 μL	1 μL	5x Z μL
iBind™ Solution	2 mL	2 mL	2 mL
計	約 2 mL	約 2 mL	2+Z mL

1. まず iBind™ Device を水平な台の上に設置します。 電源は必要としません。

2. ブロットしたメンブレンを 5mL の iBind™ Solution に浸します（数分程度）。

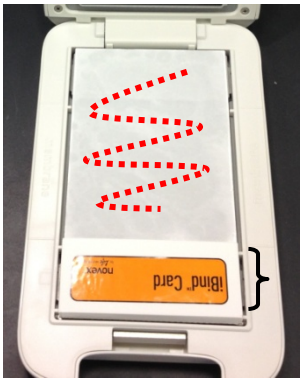


3. iBind™ Device のロックを外して蓋を開け、iBind™ Cards を袋から取り出して下記の図のように iBind™ Device にセットします。

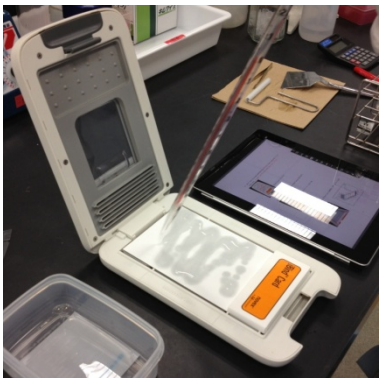


iBind™ Cards

4. iBind™ Cards の Flow Region 全体を湿らせるように 5mL の iBind™ Solution をピペットにて添加します。注：iBind™ Cards の Stack 部分を濡らさないようにして下さい

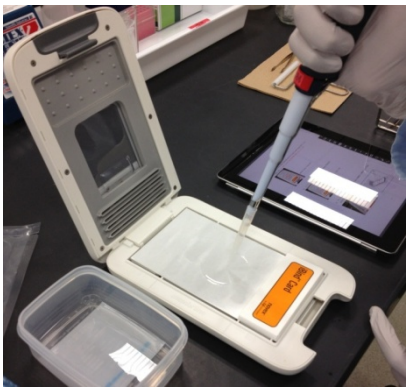


iBind™ Cards の Stack 部分

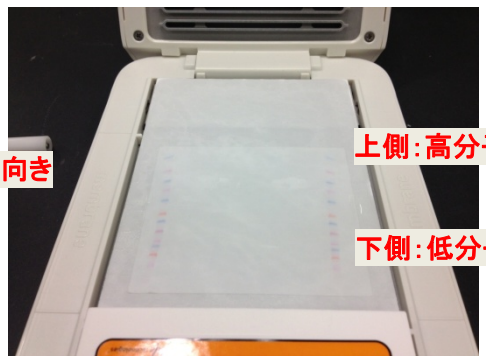


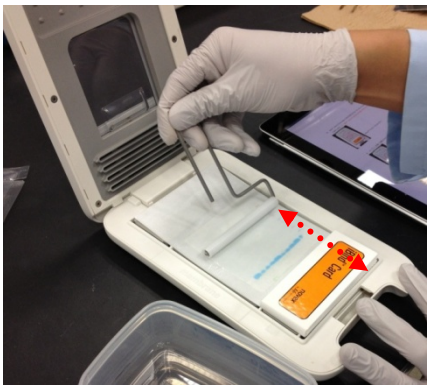
5. メンブレンを置く位置の中央に 1mL の iBind™ Solution を加えます。

メンブレンを置く位置



6. ブロット面を下向き、上側に高分子、下側に低分子が位置するように、メンブレンを iBind™ Cards に直接乗せ、付属のローラーで空気抜きを行います。



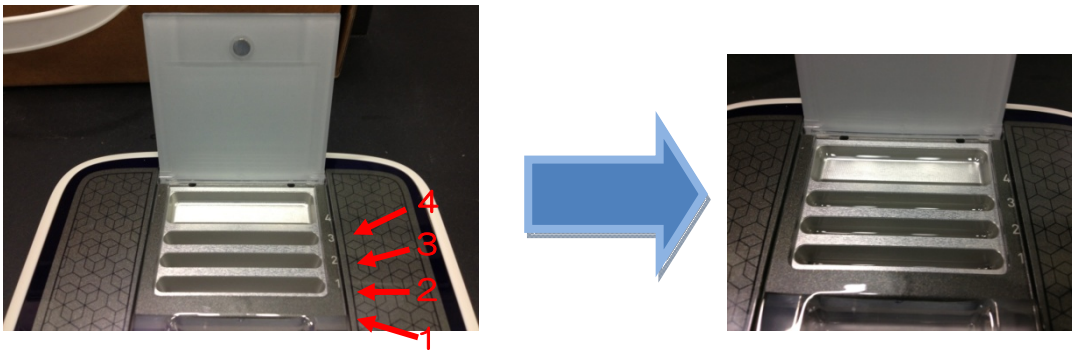


7. iBind™ Device の蓋をロックがかかるまでしっかりと閉めます。

8. iBind™ Device の上方にある試薬添加口の Well Cover を開け、Well の 1 から 4 まで順番に下記の試薬を添加します（Well 部分に気泡が生じても問題ありません）。

注：添加する順番を必ず守って下さい

Well 番号	添加する順番	試薬	添加量
1	1	一次抗体希釈液	2 mL
2	2	iBind™ Solution	2 mL
3	3	二次抗体希釈液	2 mL
4	4	iBind™ Solution	6 mL



9. 試薬添加口の蓋を閉め、2.5hr～o/n 静置します。

注：全ての Well の液が無くなるまでには 2.5hr から 30 分ほど多くかかる場合があります

10. iBind™ Device のロックを外して蓋を開け、メンブレンを取り出し、蒸留水でリンス（蒸留水 20mL, 2 分を 2 回）します。

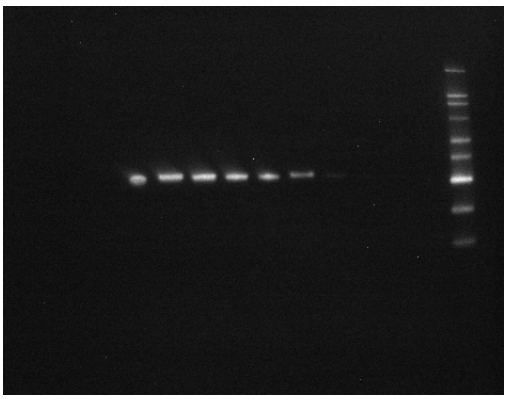
注：完全に Well の液が無くなったことを確認してから開けて下さい

11. 下記の基質 2.5mL と 5 分間反応させてからシグナルを検出します。

注：他の検出試薬も使用可能です。その場合は、使用する試薬のマニュアルを参照下さい。

試薬	Nitrocellulose	PVDF
Novex® AP Chemiluminescent Substrate (CDP-Star®)	2.375mL	2.5 mL
Chemiluminescent Substrate Enhancer (Nitro-Block-II™)	0.125mL	-

検出したシグナルの例（右のマーカーはMagicMark™ XP Western Protein Standard）



12. メンテナンス

① 使用済み iBind™ Cards は装置から取り除き廃棄します（使いまわしは出来ません）。

② iBind™ Device の Well を流水（蒸留水）で洗浄し乾燥してください。

③ 蓋のロックはせずに保管した方が本体のバネの消耗が軽減されます。

←ロックを外しておく

Device 本体を横からみた図

価格（2013年9月の時点）

製品名	製品番号	サイズ	価格
iBind™ Western Starter Kit (SLF1000, SLF1010, SLF1020　各 1 つずつ)	SLF1000S	1 セット	¥168,000
iBind™ Western Device	SLF1000	1 台	¥158,000
iBind™ Cards	SLF1010	10 枚	¥17,000
iBind™ Solutions Kit	SLF1020	10 回分	¥8,000
Novex® AP Mouse Chemiluminescent Detection Kit	SLF1021	10 回分	¥14,000
Novex® AP Rabbit Chemiluminescent Detection Kit	SLF1022	10 回分	¥14,000
iBind™ Western Device, 4-Pack (iBind™ Western Device 4 台)	SLF10004PK	4 台	¥520,000

反応条件の最適化

結果	HRP の場合	
高シグナル・高バックグラウンド	一次抗体	二次抗体
	1x – 5x *	2x – 5x **

* 標準の免疫検出プロトコルと同じ 1x 一次抗体濃度で始めてください。
　結果によっては、更なる抗体濃度の最適化が必要になるかもしれません。

**5x 二次抗体の濃度でスタートします。
　結果によっては、更なる抗体濃度の最適化が必要になるかもしれません。

結果	AP の場合	
	抗ウサギ	抗マウス
低シグナル	1:1000 – 1:500	1:500 – 1:250
高シグナル・高バックグラウンド	≧ 1:4000	≧ 1:2000

よくある質問

Q1. 抗体を回収できますか？

A1. 全ての溶液は、iBind™ Cards のスタック中に集められるため回収できません。

Q2. 現在使用しているブロッキング液を使うことができますか？

A2. iBind™溶液の粘度は最適化されており、他の溶液に替えることはできません。

Q3. メンブレンを複数同時に反応することはできますか？

A3. iBind™ Cards にはみ出さずに載せることが出来れば可能です。ただし、横並びかつ高分子・低分子の決まりは守って下さい。

Q4. 初めに iBind™ Solution 5mL を iBind™ cards に添加しましたが、全面をしっかりと濡らすことができませんでした。その場合、追加で液を足しても大丈夫でしょうか？

A4. 初めの 5mL とメンブレン設置用の 1mL 以上の iBind™ Solution は添加しないでください。

Q5. 説明書きには 2.5 時間から一晩までインキュベートすると書いてありますが、最大で何時間までインキュベート可能でしょうか？一晩でもメンブレンは乾燥しませんか？

A5. 15～17 時間程度のインキュベートであれば、メンブレンは乾きません。

Q6. 2.5 時間後に iBind™ Device の Well 4 に少しだけ液が残っていましたが、そのまま蓋をあけてメンブレンを取り出してしまっても大丈夫でしょうか？

A6. 液がなくなるまでお待ちください。終了まで 2.5 時間～3 時間の幅があります。

Q7. 終了後、iBind™ Device の洗浄はどうしたらよいでしょうか？水洗いでは錆びますか？

A7. 機器の洗浄は水と通常の洗剤で行い、十分に乾燥させてください。機器は陽極酸化（防錆加工）されています。

Q8. 酵素を直接標識した一次抗体を使用する場合は、どうすればよいでしょうか？

A8. Well 1,2 は使用せずに、Well 3 に一次抗体希釈液 2mL, Well 4 に iBind™ Solution 6mL を添加して下さい（反応時間は 1.5-2hr 程度）。

Q9. リプロービングしたメンブレンでも使用できますか？

A9. 可能です。iBind™で使用した後もリプロービングして、他の抗体と反応できます。

■アプリケーションサポートについて

テクニカルサポート
TEL：0120-477-392
（受付時間：月曜日～金曜日　9:00 ～ 18:00 祝日除く）
✉ jptech@lifetech.com

■修理・メンテナンスなどのアフターサービスについて

修理、点検整備、キャリブレーションサービス、バリデーション、移設などについてはこちらまでお問い合わせください。

TEL：0120-203-885　FAX：03-6832-9587
（受付時間：月曜日～金曜日　9:00 ～ 18:00 祝日除く）

■保守契約について

TEL：03-6832-5770　FAX：03-6832-9588
（受付時間：月曜日～金曜日　9:00 ～ 12:00、13:00 ～ 17:30 祝日除く）

研究用にのみ使用できます。診断目的およびその手続き上での使用は出来ません。
© 2013, Life Technologies Japan Ltd. All rights reserved.
Printed in Japan, 11/2013, Part Number PA010-B1311IH

ライフテクノロジーズジャパン株式会社

本社：〒108-0023　東京都港区芝浦 4-2-8
TEL.03（6832）9300　FAX. 03（6832）9580

大阪：〒564-0052　大阪府吹田市広芝町 10-28
TEL.06（6389）1201　FAX. 06（6389）1206

www.lifetechnologies.com